意大利蜜蜂胚后发育过程中中肠上皮组织细胞的更替

李兆英

(陕西教育学院生物科学与技术系, 西安 710061)

摘要: 中肠是昆虫消化、吸收营养物质的主要部位。本研究通过形态解剖、BrdU 免疫组织化学和原位末端转移酶标记(TUNEL)细胞凋亡检测等技术, 对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 中肠胚后发育过程中细胞的增殖和凋亡模式进行了比较研究。结果表明:意大利蜜蜂幼虫发育早期, 中肠的增加主要来自于上皮细胞的分裂以及再生细胞的增殖。在变态发育期间, 中肠上皮经历了广泛的重组, 由再生细胞重新形成的蛹上皮替代了幼虫上皮。再生细胞在蜜蜂中肠的整个发育阶段始终存在, 为中肠的生长和更替提供了主要的细胞来源。本研究为昆虫组织细胞自噬和凋亡机制的研究提供一定的证据。

关键词: 意大利蜜蜂; 中肠; 再生细胞; BrdU; TUNEL

中图分类号: Q965 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2011)10-1127-06

Replacement of midgut epithelium in *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae) during postembryonic development

LI Zhao-Ying (Department of Biological Science and Technology, Shaanxi Institute of Education, Xi'an 710061, China)

Abstract: The midgut epithelium of insects is responsible for enzyme production, digestion, and secretion. The proliferation and apoptosis pattern of midgut in *Apis mellifera ligustica* was comparatively studied by using 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation and the terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) technique. The results showed that during larval development the midgut size increase resulted from digestive cell proliferation and from the increase of digestive cell number due to differentiation of regenerative cells. During metamorphosis, the larval midgut epithelium degenerated and the pupal epithelial cells due to differentiation of larval regenerative cells replaced the larval epithelial cells. The regenerative cells occurred during the whole developmental stages of the midgut. Regenerative cell proliferation and differentiation result in the growth and change in midgut epithelium of honeybee. This study provides a theoretical basis for apoptosis and autophagy research.

Key words: *Apis mellifera ligustica*; midgut; regenerative cells; BrdU; TUNEL

昆虫的中肠是消化道的主要组成部分, 它的功能是分泌各种消化酶、消化食物及吸收营养物质。中肠在组织上由内向外分别为围食膜、肠壁细胞、底膜、环肌、纵肌和围膜 6 层(彩万志等, 2001)。组成中肠的细胞主要有 3 种类型:消化细胞、内分泌细胞和再生细胞; 在鳞翅目等一些昆虫的幼虫中, 还具有特殊的杯状细胞(Tettamanti *et al.*, 2007)。

再生细胞在中肠上皮的形成中扮演了重要的角色。它们一般位于中肠上皮细胞基底面的再生细胞窝(regenerative cyst)内, 具有分裂增殖能力, 再生胞窝在许多昆虫种类都存在(Baldwin and Hakim, 1991; Jiang *et al.*, 1997; Uwo *et al.*, 2002; Martins *et al.*, 2006)。在昆虫幼虫发育期间, 这些干细胞在每一次蜕皮之前都会快速的增殖, 分化形成幼虫中肠上皮细胞; 在变态发育期间, 它们替换退化的老的幼虫上皮, 形成新的蛹-成虫上皮细胞(Hakim *et al.*, 2010)。而幼虫上皮细胞则退化形成黄体(yellow body, YB), 逐渐同新形成的蛹上皮分离, 进入肠腔(Neves *et al.*, 2002)。Neves 等(2002)对一种蜜蜂 *Melipona quadrifasciata anthidioides* 的研究表明, 再生细胞的胞质很少, 胞核中有浓缩的染色质, 在胞质中有少量的核糖体、线粒体、内质网和

基金项目: 陕西省教育厅科技计划项目(11JK0618)

作者简介: 李兆英, 女, 1971 年生, 山东青州人, 博士研究生, 副教授, 研究方向为昆虫生理及发育, E-mail: apis2002@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2011-04-18; 接受日期 Accepted: 2011-09-15

高尔基体，代谢活动很低。

近几年，关于昆虫变态发育时细胞自噬和凋亡的研究进行得非常活跃(刘凯于等，2008；史艳霞等，2009)。在一般情况下，自噬构成一种饥饿应激适应性以避免细胞的死亡。在胞外营养缺乏的条件下，细胞通过自噬来增加胞内代谢产物以满足继续生存的需要；而在其他条件下，如在昆虫变态期，则引发细胞高水平的自噬和凋亡，出现不可逆的细胞死亡，以迅速清除和降解多余的、或受损的、或衰老退化的细胞(Maiuri *et al*., 2007)。完全变态类昆虫变态发育期间中肠上皮组织细胞的退化、死亡主要是通过以上两种途径来完成的(Tettamanti *et al*., 2007)。

本研究通过形态解剖、BrdU 免疫组织化学(5-bromo-2-deoxyuridine incorporation, BrdU)以及原位末端转移酶标记(terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)细胞凋亡检测等技术，对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 胚后发育过程中中肠上皮细胞的发育特点进行了比较研究，显示了蜜蜂幼虫中肠上皮的形成以及在幼虫-蛹转换过程中中肠的结构特点，为蜜蜂的食性适应以及病虫害防治研究提供理论依据，同时也为昆虫中肠组织细胞自噬和凋亡机制的研究提供一定的证据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验所用的意大利蜜蜂 *A. m. ligustica* 幼虫、蛹及成虫均购自秦岭沣峪蜜蜂养殖户，所取材料均来自同一蜂群。幼虫(larva, L)共 5 龄(L1 – L5)，根据戴氏定律(Dyar's law)，每一头幼虫的龄期通过测量头壳的宽度来决定；预蛹(prepupa, PP)期 2 d；蛹(pupa, P)期约 9 d(P1 – P9)。

1.2　研究方法

1.2.1　组织化学：意大利蜜蜂工蜂的幼虫、预蛹、蛹和成虫多聚甲醛 4℃ 固定过夜。梯度酒精脱水，二甲苯透明。石蜡包埋，横向或纵向连续切片，切片厚度 5 ~ 7 μm，切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上，烘干备用。切片脱蜡后复水，HE 染色，OLYMPUS(BX51)显微镜观察拍照。

1.2.2　BrdU 掺入处理：对取得的蜜蜂幼虫和蛹的活体，使用了 2 种 BrdU 处理方法：(1)直接注射法，对于 3 龄以上幼虫、预蛹和蛹，直接从腹部注射约 3 μL 浓度为 25 mg/mL 的 BrdU(B9002, Sigma)；(2)饲喂法，对于 1 – 2 龄幼虫，用浓度为 25 mg/mL 的 BrdU 混合溶液(H_2O 和蜂王浆以 1∶1 比例混合)(Edwards, 1969)进行饲喂。

1.2.3　BrdU 免疫组织化学染色：将 BrdU 处理过的 1 – 5 龄幼虫，预蛹及 1 – 8 d 蛹各 3 ~ 5 头，4% 多聚甲醛 4℃ 固定 8 h。70%, 80%, 90%, 95% 和 100% 梯度酒精脱水，石蜡包埋，横向连续切片，厚度为 7 μm。切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上，烘干备用。

切片用二甲苯脱蜡，入梯度酒精复水；抗原修复，PBS 洗 3 次；3% 过氧化氢封闭内源性酶 10 min，TBS 洗 3 次；滴加正常山羊血清封闭液，37℃ 30 min；滴加小鼠 BrdU 单克隆抗体(1/200)(ab8039, ABCAM)，湿盒中 4℃ 孵育过夜，PBS 洗 3 次。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG，37℃ 120 min，PBS 洗 3 次；滴加过氧化物酶 37℃ 孵育 30 min，PBS 洗 3 次；DAB 显色后镜检，中性树胶封片，Nikon 数码显微成像系统(DS-5M)拍照。

阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.2.4　TUNEL 原位细胞凋亡检测：切片用二甲苯脱蜡，入梯度酒精复水；复合消化液(蛋白酶 K-胃蛋白酶)37℃ 孵育 20 min，PBS 洗 2 次；滴加新鲜配置的 TUNEL 反应混合溶液(Roche)，湿盒中 37℃ 孵育 60 min，PBS 洗 3 次；滴加转化剂-POD，37℃ 孵育 30 min，PBS 洗 3 次；DAB 显色后镜检，中性树胶封片，Nikon 数码显微成像系统(DS-5M)拍照。

阴性对照以不含末端脱氧核糖核酸转移酶的核苷酸混合液代替 TUNEL 反应混合溶液。

2　结果

2.1　幼虫期中肠组织构造和变化

在刚孵化的 1 龄幼虫早期，中肠壁由圆形或立方形的单层上皮细胞构成，胞核大而圆，位于细胞中央，染色质呈分散的块状；细胞以局部分泌的方式，从顶部或侧面将分泌囊泡外排入肠腔；中肠细胞的周围被薄层的肌肉和导管所包围；在单层肠壁细胞的基部，能看到离散排布的单个的再生细胞，直径约 10 ± 1 μm(图版 Ⅰ: A)。BrdU 标记显示，一些上皮细胞正处于旺盛的分裂增殖阶段(图版 Ⅰ: B)。在 L2 时，上皮细胞进一步增大，胞质中具有颗粒及空泡，并已形成纹状缘；上皮细胞向肠腔中胞吐外排出更多的分泌囊泡；再生细胞 1 ~ 4

个聚集在一起，位于肠壁细胞基底面的再生胞窝内；细胞球形或卵圆形，呈同心圆排列，直径 5 ± 0.8 μm，胞质少，胞核中染色质浓缩(图版Ⅰ：C)。BrdU 标记显示，部分柱状细胞仍然在分裂增殖，形成假复层上皮(图版Ⅰ：D)。

L3 时，消化细胞胞质中形成大量空泡，细胞核染色质浓缩；每一个胞窝内再生细胞的数量增加到 5 个，细胞体积增大(图版Ⅰ：F)。BrdU 标记显示，仍有部分柱状细胞在分裂，同时许多再生细胞也开始分裂增殖(图版Ⅰ：G)。在 L2 到 L3 时，在柱状细胞和再生细胞分裂增殖的同时，位于中肠和前胃交界处的大量的再生细胞也在快速分裂(图版Ⅰ：E)。到幼虫发育末期(L5)，柱状细胞伸长，胞核中染色质分散；再生细胞胞核增大，胞质扩充，成串排列在柱状细胞基部(图版Ⅰ：H)。

2.2　蛹期中肠组织构造和变化

在预蛹发育期，中肠柱状细胞继续伸长，胞核位于细胞中下部(图版Ⅰ：K)；肠壁基部的再生细胞胞体增大，快速分裂形成一串串细胞，BrdU 标记显示许多再生细胞处于快速的分裂增殖，不同的再生细胞窝相互靠近并接触(图版Ⅰ：L)。幼虫上皮细胞逐渐被推入肠腔形成黄体细胞，蛹新的中肠上皮开始形成(图版Ⅰ：M)。TUNEL 标记显示，幼虫柱状细胞和黄体开始凋亡(图版Ⅰ：I，J)。到蛹发育中期(P3 – P5)，中肠上皮细胞由排列整齐的柱状细胞组成，但是比幼虫的细胞要短一些；柱状上皮细胞的顶端密布着胞吐作用形成的小泡(图版Ⅰ：N)。成年蜜蜂的中肠主要是由柱状消化细胞组成；再生细胞分散地分布于柱状细胞基底面的再生胞窝内，每一个胞窝内有 1 ~ 4 个呈同心圆排列的再生细胞(图版Ⅰ：O)。

3　讨论

3.1　意大利蜜蜂中肠上皮的结构

大部分的花蜜都是由 3 种糖构成的：单糖有葡萄糖和果糖，双糖主要是蔗糖。对于具有较长的取食口器的昆虫种类，如蛾类和蝴蝶(具有虹吸式口器)它们所取食的植物种类的花蜜中含有更多的蔗糖(Perret *et al*.，2001)。而在蜜蜂无论是幼虫或是成虫，其主要食物都是经过加工处理的花蜜形成的蜂蜜或蜂花粉。同天然的花蜜相比，蜂蜜中葡萄糖和果糖的含量达到 80% ~95%，而蔗糖仅占 5% 左右。由于这种食物结构的差别，蜜蜂成虫和幼虫中肠柱状上皮用于增大消化和吸收面积的的刷状缘结构明显少于鳞翅类昆虫。对意大利蜜蜂幼虫中肠组织结构的观察也表明，其柱状上皮细胞顶端，很少看到象鳞翅目昆虫的浓密的刷状缘，并且在幼虫中肠壁细胞中，也没有鳞翅目幼虫所具有的的杯状细胞，这些特征都表明了中肠上皮细胞的结构同食性之间的密切关系。同样，蝴蝶的成虫和幼虫的中肠壁细胞的构成也有不同，成年蝴蝶没有杯状细胞，这种结构上的差异同样是由幼虫和成虫完全不同的食性所造成的(Dow，1986)。

成年蜜蜂的中肠上皮细胞由柱状的消化细胞和内分泌细胞所组成(Raes *et al*.，1994)。对意大利蜜蜂蛹及成虫中肠上皮组织结构的观察表明，柱状上皮细胞具有嗜碱性的胞质，有的还有空泡，在上皮细胞顶部区域能看到一些嗜酸性的筛状缘和分泌小泡。烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 在中肠转换的预蛹发育期间，新形成的中肠柱状上皮细胞质内能看到大小不同的圆形小泡，电镜研究显示，那些是被糖原颗粒包围的脂滴以及一些囊泡和小球体(Tettamanti *et al*.，2007)。这些储存在蛹中肠细胞中的分子的作用还不清楚，它们可能是在蛹期脂肪体退化的时候，为新形成的中肠上皮提供能量支持(Iwanaga *et al*.，2000)。在意大利蜜蜂蛹发育后期，在中肠前部柱状上皮细胞的顶端，密布着胞吐作用形成的包含电子致密物质的小泡。对烟草天蛾 *Manduca sexta* (Russell and Dunn，1991)、家蚕 *Bombyx mori* (Waku and Sumimoto，1971)的研究表明，这些小泡中含有溶菌酶，它们最后会以顶浆分泌的方式进入肠腔。但是它们在意大利蜜蜂中肠中的作用还有待于进一步的研究证明。

3.2　蜜蜂中肠上皮中的再生细胞

再生细胞在蜜蜂中肠上皮的形成中扮演了重要的角色。在意大利蜜蜂幼虫发育早期(L1 – L2)，单个的再生胞窝等距离地分散在中肠柱状上皮细胞基底面，每一个窝内有 1 ~2 个球形或卵圆形的再生细胞。到 L3 – L4，再生细胞开始分裂增殖，每个再生胞窝中的细胞数量增加到 4 ~5 个，细胞呈同心圆排列(Raes *et al*.，1994；Cruz-Landim *et al*.，1996)，后逐渐增加到 6 ~8 个。在幼虫发育末期，再生细胞通过对称分裂的方式快速增殖，并逐渐排成一列，每一个长条形的胞窝中有 5 ~6 个细胞，此时再生细胞体积增加，并具有大的细胞核和扩充的细胞质。再生细胞的快速分裂使蜜蜂幼虫中肠的表面积和体积快速增加。意大利蜜蜂再生细胞的发育

特点同 *M. quadrifasciata anthidioides* 很相似(Neves *et al*., 2003)。

在意大利蜜蜂预蛹期，再生细胞窝彼此逐渐靠近，并形成连接，再生细胞之间通过胞质桥(Raes *et al*., 1994)相互连接，通过这些细胞质之间的相互联系导致了同步的细胞分化。在鳞翅目昆虫，再生细胞是通过缝隙连接相互联系的(Baldwin and Hakim, 1991)。再生细胞分裂形成的新细胞将幼虫老的上皮逐渐推向肠腔，形成黄体。大约到预蛹中期，在退化的幼虫中肠上皮基部逐渐形成了连续的新的中肠上皮细胞层，那些衰老的上皮细胞进入肠腔；随后，中肠壁逐渐增厚，黄体细胞块同新的中肠上皮分离，进入肠腔。在烟芽夜蛾 *H. virescens*，形成黄体的老的柱状上皮细胞大多数呈现了液泡化的细胞质(Tettamanti *et al*., 2007)。再生细胞在蛹期重新构建了蛹-成虫的中肠上皮。另外一些再生细胞仍然保持了干细胞的特性，一直保留至成虫，补充因分泌活动、食物损伤或病原体侵害等造成损伤、死亡的细胞(Werner *et al*., 1991; Cruz-Landim *et al*., 1996)。

3.3 蜜蜂中肠上皮细胞的自噬和凋亡

许多研究表明，在昆虫变态发育期间，中肠上皮的退化是通过程序性细胞死亡中的细胞自噬和凋亡两种途径实现的(Jiang *et al*., 1997; Lee *et al*., 2002)。Vilaplana 等(2007)通过共聚焦显微镜观察了海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 特异染色的溶酶体形态变化，并通过 TUNEL 技术以及 caspase 3 抗体的免疫组化分析，描述了海灰翅夜蛾变态期中肠细胞死亡的形态发生特征，指出了海灰翅夜蛾中肠细胞的死亡显示了自噬和凋亡的双重特点。Tettamanti 等(2007)对烟芽夜蛾 *H. virescens* 的研究表明，在取食中止后的早期阶段，细胞凋亡主要发生在鳞翅目等少数昆虫所特有的杯状细胞中。对意大利蜜蜂进行的 TUNEL 标记显示，在预蛹早期中肠开始退化替换的过程中，有少数的柱状上皮细胞开始凋亡，脱离进入肠腔的细胞形成的黄体细胞核则呈现明显的阳性，同海灰翅夜蛾 *S. littoralis* 非常相似；上皮细胞开始退化时依然保留了它的典型特征，如细胞形态完整，存在纹状缘。但是在意大利蜜蜂的预蛹期，中肠上皮细胞是否存在自噬作用，还需要进一步的实验证明。

参考文献(References)

Baldwin KM, Hakim RS, 1991. Growth and differentiation of the larval midgut epithelium during molting in the moth, *Manduca sexta*. *Tissue Cell*, 23: 411-422.

Cai WZ, Pang XF, Hua BZ, Liang GW, Song DL, 2001. General Entomology. China Agricultural University Press, Beijing. 106-111. [彩万志，庞雄飞，花保祯，梁广文，宋敦伦，2001. 普通昆虫学. 北京：中国农业大学出版社. 106-111.]

Cruz-Landim C, Silva-de-Moraes RLM, Serrão JE, 1996. Ultrastructural aspects of epithelial renewal in the midgut of adult worker bees (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Comparative Biology*, 1: 29-40.

Dow JAT, 1986. Insect midgut function. *Adv. Insect Physiol*., 19: 187-328.

Edwards JS, 1969. Postembryonic development and regeneration of the insect nervous system. *Adv. Insect Physiol*., 6: 97-137.

Hakim RS, Baldwin K, Smagghe G, 2010. Regulation of midgut growth, development, and metamorphosis. *Annu. Rev. Entomol*., 55: 593-608.

Iwanaga M, Kang WK, Kobayashi M, Maeda S, 2000. Baculovirus infection blocks the progression of fat body degradation during metamorphosis in *Bombyx mori*. *Arch. Virol*., 145: 1763-1771.

Jiang C, Baehrecke EH, Thummel CS, 1997. Steroid regulated programmed cell death during *Drosophila* metamorphosis. *Development*, 124: 4673-4683.

Lee CY, Cooksey BA, Baehrecke EH, 2002. Steroid regulation of midgut cell death during *Drosophila* development. *Dev. Biol*., 250: 101-111.

Liu KY, Deng YJ, Zhang XP, Peng JX, Li Y, Hong HZ, 2008. Research progress in programmed cell death in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 51(6): 652-658. [刘凯于，邓玉杰，张许平，彭建新，李毅，洪华珠，2008. 昆虫细胞程序性死亡的研究进展. 昆虫学报，51(6): 652-658.]

Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G, 2007. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*., 8(9): 741-752.

Martins GF, Neves CA, Campos LAO, Serrão JE, 2006. The regenerative cells during the metamorphosis in the midgut of bees. *Micron*, 37: 161-168.

Neves CA, Bhering LL, Serrão JE, Gitirana LB, 2002. FMRFamide-like midgut endocrine cells during the metamorphosis in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae). *Micron*, 33: 453-460.

Neves CA, Gitirana LB, Serrão JE, 2003. Ultrastructural study of the metamorphosis in the midgut of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Apidae, Meliponini) worker. *Sociobiology*, 41: 443-459.

Perret M, Chautems A, Spichiger R, Peixoto M, Savolainen V, 2001. Nectar sugar composition in relation to pollination syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). *Ann. Bot*., 87: 267-273.

Raes H, Verbeke M, Meulemans W, Coster WD, 1994. Organization and ultrastructure of the regenerative crypts in the midgut of the adult worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *Tissue and Cell*, 26: 231-238.

Russell VW, Dunn PE, 1991. Lysozyme in the midgut of *Manduca sexta* during metamorphosis. *Arch. Insect Biochem. Physiol*., 17: 67-80.

Shi YX, Li QR, Huang ZJ, Zeng WN, Hu ZY, Lei SY, Deng XJ, Yang WY, Cao Y, Feng QL, 2009. Autophagy and apoptosis in insect cells during metamorphosis. *Acta Entomologica Sinica*, 52 (1): 84 - 94. [史艳霞，李庆荣，黄志君，曾文年，胡占英，雷淑英，邓小娟，杨婉莹，曹阳，冯启理，2009. 昆虫变态发育过程中的细胞自噬和凋亡. 昆虫学报，52(1)：84 - 94]

Tettamanti G, Grimaldi A, Casartelli M, Ambrosetti E, Ponti B, Congiu T, Ferrarese R, Rivas-Pena ML, Pennacchio F, Eguileor M, 2007. Programmed cell death and stem cell differentiation are responsible for midgut replacement in *Heliothis virescens* during prepupal instar. *Cell Tissue Res*., 330: 345 - 359.

Uwo MF, Ui-Tei K, Park P, Takeda M, 2002. Replacement of midgut epithelium in the greater wax moth, *Galleria mellonela*, during larval-pupal moult. *Cell Tissue Res*., 308: 319 - 331.

Vilaplana L, Pascual N, Perera N, Bellés X, 2007. Molecular characterization of an inhibitor of apoptosis in the Egyptian armyworm, *Spodoptera littoralis*, and midgut cell death during metamorphosis. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 37: 1241 - 1 248.

Waku Y, Sumimoto KI, 1971. Metamorphosis of midgut epithelial cells in the silkworm (*Bombyx mori* L.) with special regard to the calcium salt deposits in the cytoplasm. I. Light microscopy. *Tissue Cell*, 3: 127 - 136.

Werner K, Moutairou K, Werner G, 1991. Formation and structure of the surface coat in the midgut of a waterstrider, *Gerris najas* Deg. (Heteroptera: Gerridae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 20: 69 - 77.

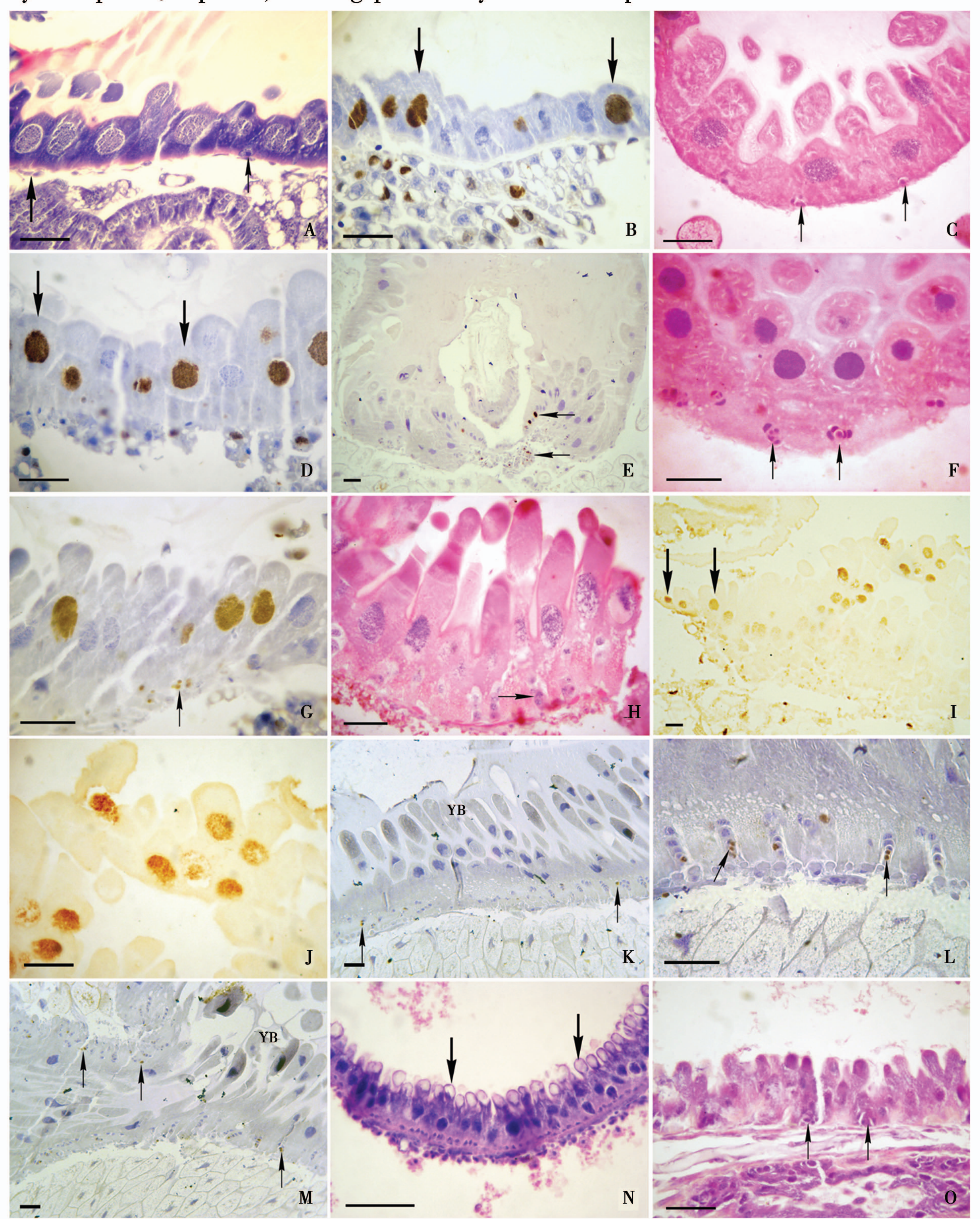
（责任编辑：袁德成）

图版Ⅰ说明 Explanations of Plate Ⅰ

A：工蜂 L1 中肠上皮的组织结构，粗箭头指示为中肠壁肌肉层，细箭头指示为再生胞窝 Midgut epithelium in the 1st instar larva, thick arrow indicating thin layer of muscle fibers, and thin arrow regenerative crypt; B：BrdU 标记工蜂 L1 的中肠上皮，箭头指示为增殖的柱状细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in the 1st instar larva, arrows indicating active proliferation of columnar cells; C：工蜂 L2 中肠上皮的组织结构，箭头指示为再生胞窝 Midgut epithelium in the 2nd instar larva, arrows indicating regenerative crypts; D：BrdU 标记工蜂 L2 的中肠上皮，箭头指示为增殖的柱状细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in the 2nd instar larva, arrows indicating active proliferation of columnar cells; E, G：BrdU 标记工蜂 L3 的中肠上皮，箭头指示为分裂增殖的再生细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in the 3rd instar larva, arrows indicating proliferation of regenerative cells; F：工蜂 L3 中肠上皮的组织结构，箭头指示为再生胞窝 Midgut epithelium in the 3rd instar larva, arrows indicating regenerative crypts; H：工蜂 L5 中肠上皮的组织结构，箭头指示为再生胞窝 Midgut epithelium in the 5th instar larva, the arrow indicating regenerative crypt; I：TUNEL 标记 PP 的凋亡的中肠上皮，箭头指示为凋亡的中肠上皮细胞 Labeling of apoptotic epithelium cells with the TUNEL method in prepupa, arrows indicating apoptotic cells; J：TUNEL 标记 PP 凋亡的黄体细胞 Labeling of apoptotic yellow body cells with the TUNEL method in prepupa; K：BrdU 标记工蜂 PP 的中肠上皮，箭头指示为分裂增殖的再生细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in prepupa, arrows indicating proliferation of regenerative cells; L：BrdU 标记工蜂 PP 的中肠上皮，箭头指示为分裂增殖的再生细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in prepupa, arrows indicating proliferation of regenerative cells; M：BrdU 标记工蜂 PP 的中肠上皮，箭头指示为分裂增殖的再生细胞 BrdU-labeled midgut epithelium in prepupa, arrows indicating proliferation of regenerative cells; N：工蜂 P3 中肠上皮的组织结构，箭头指示为柱状上皮细胞顶端胞吐作用形成的小泡 Midgut epithelium in day-3 pupa, arrows indicating vesicles on columnar cells during exocytosis; O：工蜂成虫中肠上皮的组织结构，箭头指示为再生胞窝 Adult midgut epithelium, arrows indicating regenerative crypts. YB：黄体细胞 Yellow body. 标尺 Scale bar = 50 μm.

李兆英：意大利蜜蜂胚后发育过程中中肠上皮组织细胞的更替　　　　图版 I

LI Zhao-Ying: Replacement of midgut epithelium in *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae) during postembryonic development　　　　Plate I



图版说明见文后 Explanations of the plate at the end of text.